

日 本 国 特 許 庁  
JAPAN PATENT OFFICE

19.11.2004

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日            2 0 0 4 年   6 月 2 3 日  
Date of Application:

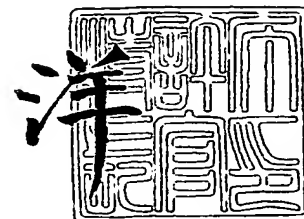
出 願 番 号            特 願 2 0 0 4 - 1 8 4 5 9 5  
Application Number:  
[ST. 10/C] :            [ J P 2 0 0 4 - 1 8 4 5 9 5 ]

出   願   人            三 菱 瓦 斯 化 学 株 式 会 社  
Applicant(s):

2 0 0 5 年   1 月   7 日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

小 川



BEST AVAILABLE COPY

出証番号   出証特 2 0 0 4 - 3 1 2 0 4 5 3

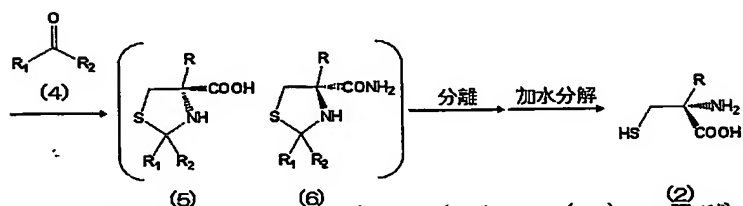
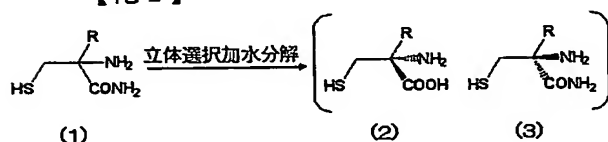
【書類名】 特許願  
【整理番号】 P2003-352  
【あて先】 特許庁長官殿  
【国際特許分類】 C12P 41/00  
【発明者】  
    【住所又は居所】 新潟県新潟市太夫浜字新割 1 8 2 番地 三菱瓦斯化学株式会社新潟研究所内  
    【氏名】 樋口 靖  
【発明者】  
    【住所又は居所】 新潟県新潟市太夫浜字新割 1 8 2 番地 三菱瓦斯化学株式会社新潟研究所内  
    【氏名】 田中 昭宣  
【発明者】  
    【住所又は居所】 新潟県新潟市太夫浜字新割 1 8 2 番地 三菱瓦斯化学株式会社新潟研究所内  
    【氏名】 長谷見 隆司  
【発明者】  
    【住所又は居所】 新潟県新潟市太夫浜字新割 1 8 2 番地 三菱瓦斯化学株式会社新潟研究所内  
    【氏名】 杉田 将紀  
【特許出願人】  
    【識別番号】 000004466  
    【氏名又は名称】 三菱瓦斯化学株式会社  
【代理人】  
    【識別番号】 100117891  
    【弁理士】  
    【氏名又は名称】 永井 隆  
【手数料の表示】  
    【予納台帳番号】 025737  
    【納付金額】 16,000円  
【提出物件の目録】  
    【物件名】 特許請求の範囲 1  
    【物件名】 明細書 1  
    【物件名】 要約書 1  
    【包括委任状番号】 0102335

## 【書類名】特許請求の範囲

## 【請求項 1】

一般式 (1) で示される 2-アルキルシステインアミドに、2-アルキル-L-システインアミドのアミド結合を立体選択的に加水分解する活性を有する微生物の菌体又は菌体処理物を作用させて、生成した一般式 (2) で示される 2-アルキル-L-システインと未反応の一般式 (3) で示される 2-アルキル-D-システインアミドを、一般式 (4) で示されるアルデヒド又はケトン、或いはそれらのアセタール (ケタール) と反応させて、それぞれより一般式 (5) で示されるチアゾリジン-4-カルボン酸と一般式 (6) で示されるチアゾリジン-4-カルボン酸アミドを誘導し、それらの混合物より一般式 (5) で示されるチアゾリジン-4-カルボン酸を分離した後、これを加水分解することによって開環し、一般式 (2) で示される光学活性 2-アルキル-L-システインを取得することを特徴とする、2-アルキルシステインアミドから光学活性 2-アルキル-L-システインを製造する方法。

## 【化 1】



(一般式 (1)、(2)、(3)、(5)、及び (6) 中の R は炭素数 1~4 の低級アルキル基を示す。また、一般式 (4)、(5)、及び (6) 中の、R<sub>1</sub> 及び R<sub>2</sub> は各々独立した水素、炭素数 1~4 の低級アルキル基、又は両者が互いに結合した員数 5~8 の脂環構造を示す。但し、R<sub>1</sub> 及び R<sub>2</sub> が同時に水素である場合を除く。)

## 【請求項 2】

一般式 (1)、(2)、(3)、(5)、及び (6) 中の R がメチル基である、請求項 1 に記載の 2-アルキルシステインアミドから光学活性 2-アルキル-L-システインを製造する方法。

## 【請求項 3】

一般式 (4)、(5)、及び (6) 中の R<sub>1</sub> 及び R<sub>2</sub> が共にメチル基である、請求項 1 又は 2 に記載の 2-アルキルシステインアミドから光学活性 2-アルキル-L-システインを製造する方法。

## 【書類名】明細書

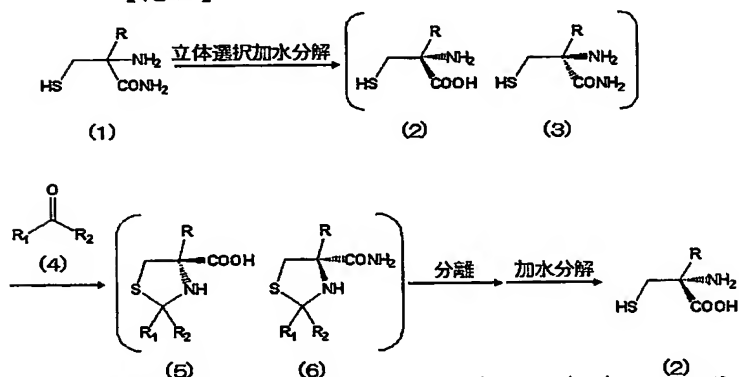
## 【発明の名称】光学活性2-アルキル-L-システインの製造方法

## 【技術分野】

【0001】

本発明は、一般式(2)で示される光学活性2-アルキル-L-システインの製造方法に関する。詳しくは、一般式(1)で示されるDL体の混合物からなる2-アルキルシステインアミドに、2-アルキル-L-システインアミドのアミド結合を立体選択的に加水分解する活性を有する微生物の菌体又は菌体処理物を作用させて、生成した一般式(2)で示される2-アルキル-L-システインと一般式(3)で示される未反応の2-アルキル-D-システインアミドを、一般式(4)で示されるアルデヒド又はケトン、或いはそれらのアセタール(ケタール)と反応させて、それぞれより一般式(5)で示されるチアゾリジン-4-カルボン酸と一般式(6)で示されるチアゾリジン-4-カルボン酸アミドを誘導し、それらの混合物から一般式(5)で示されるチアゾリジン-4-カルボン酸を分離した後、これを加水分解することによって開環し、一般式(2)で示される光学活性2-アルキル-L-システインを取得することを特徴とする、光学活性2-アルキル-L-システインの製造方法に関する。光学活性2-アルキル-L-システインは、各種工業薬品、農薬、及び医薬品の製造中間体として重要な物質である。

## 【化1】



(一般式(1)、(2)、(3)、(5)、及び(6)中のRは炭素数1~4の低級アルキル基を示す。また、一般式(4)、(5)、及び(6)中の、R<sub>1</sub>及びR<sub>2</sub>は各々独立した水素、炭素数1~4の低級アルキル基、又は両者が互いに結合した員数5~8の脂環構造を示す。但し、R<sub>1</sub>及びR<sub>2</sub>が同時に水素である場合を除く。)

## 【背景技術】

【0002】

光学活性2-アルキル-L-システインの製造方法として、光学活性なL-システインエチルエステルを出発原料として、ピバルアルデヒドで環化、ホルムアルデヒドで保護し、リチウム試薬とヨウ化メチルでメチル化した後、塩酸で開環、脱保護して2-メチル-L-システインを塩酸塩として得る方法が知られている(例えば、特許文献1、非特許文献2参照)。しかしながら、この方法は、出発原料が光学活性体であり、工程数が多く煩雑であり、高価な試薬を必要とするため、工業的に優れた方法とはいえない。

【0003】

一方、一般式(1)で示される2-アルキルシステインアミドを微生物が有する酵素を利用して不斉加水分解し、一般式(2)で示される光学活性2-アルキル-L-システインを製造する方法は報告されていない。

【0004】

【特許文献1】米国特許第6,403,830号明細書

【非特許文献1】Gerald Pattenden, Stephen M. Thomas and Martin F. Jones, Tetrahedron, Vol 49, No 10, pp 2131-2138, 1993

## 【発明の開示】

## 【発明が解決しようとする課題】

## 【0005】

本発明の目的は、従来技術における上記のような課題を解決し、光学活性な各種工業薬品、農薬、及び医薬品の製造中間体として重要な光学活性 2-アルキル-L-システインを、高品質かつ安価に製造する方法を提供することにある。

## 【課題を解決するための手段】

## 【0006】

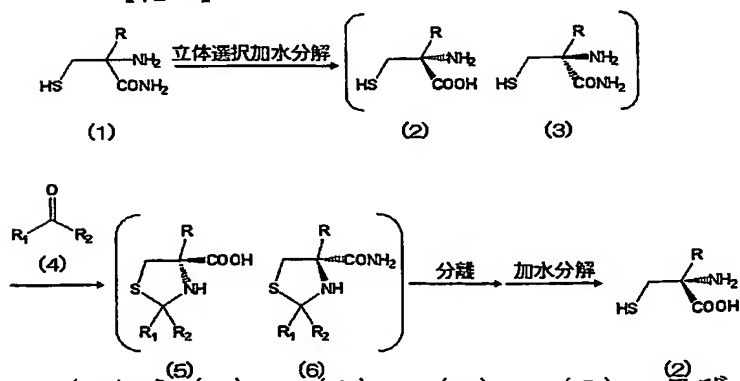
本発明者らは、高品質かつ安価に光学活性 2-アルキル-L-システインを製造する方法について鋭意検討を行った結果、2-アルキルシステインアミドの生化学的不斉加水分解反応で生成した 2-アルキル-L-システインと未反応の 2-アルキル-D-システインアミドとの間に、水及び各種有機溶媒に対する溶解度、並びに分配係数等の物理化学的性状に大きな差がないため、効率的な分離を行うためにはさらなる改良を要することを知った。そこで検討を加え、生成した 2-アルキル-L-システインと未反応の 2-アルキル-D-システインアミドを一般式 (4) で示されるアルデヒド又はケトン、或いはそれらのアセタール（ケタール）と反応させて、それぞれを一般式 (5) で示されるチアゾリジン-4-カルボン酸と一般式 (6) で示されるチアゾリジン-4-カルボン酸アミドに誘導することにより、両物質を簡単な固液分離手段で効率的に分離することが可能となり、それによって得られたチアゾリジン-4-カルボン酸を加水分解することによって、光学活性 2-アルキル-L-システインとなす本発明に到達した。

## 【0007】

即ち、本発明は、一般式 (1) で示される 2-アルキルシステインアミドから、一般式 (2) で示される光学活性 2-アルキル-L-システインを、高品質かつ安価に製造するための 1) ~ 3) に示す方法に関する。

1) 一般式 (1) で示される 2-アルキルシステインアミドに、2-アルキル-L-システインアミドのアミド結合を立体選択的に加水分解する活性を有する微生物の菌体又は菌体処理物を作用させて、生成した一般式 (2) で示される 2-アルキル-L-システインと未反応の一般式 (3) で示される 2-アルキル-D-システインアミドを、一般式 (4) で示されるアルデヒド又はケトン、或いはそれらのアセタール（ケタール）と反応させて、それぞれより一般式 (5) で示されるチアゾリジン-4-カルボン酸と一般式 (6) で示されるチアゾリジン-4-カルボン酸アミドを誘導し、それらの混合物より一般式 (5) で示されるチアゾリジン-4-カルボン酸を分離した後、これを加水分解することによって開環し、一般式 (2) で示される光学活性 2-アルキル-L-システインを取得することを特徴とする、2-アルキルシステインアミドから光学活性 2-アルキル-L-システインを製造する方法。

## 【化 2】



(一般式 (1)、(2)、(3)、(5)、及び (6) 中の R は炭素数 1 ~ 4 の低級アルキル基を示す。また、一般式 (4)、(5)、及び (6) 中の、R<sub>1</sub> 及び R<sub>2</sub> は各々独立した水素、炭素数 1 ~ 4 の低級アルキル基、又は両者が互いに結合した員数 5 ~ 8 の脂環構造を示す。但し、R<sub>1</sub> 及び R<sub>2</sub> が同時に水素である場合を除く。)

2) 一般式 (1)、(2)、(3)、(5)、及び (6) 中の R がメチル基である、1)

に記載の 2-アルキルシステインアミドから光学活性 2-アルキル-L-システインを製造する方法。

3) 一般式 (4)、(5)、及び (6) 中の  $R_1$  及び  $R_2$  が共にメチル基である、1) 又は 2) に記載の 2-アルキルシステインアミドから光学活性 2-アルキル-L-システインを製造する方法。

#### 【発明の効果】

##### 【0008】

2-アルキルシステインアミドのアミド結合を生化学的に不斉分解し、生成した 2-アルキル-L-システインと未反応の 2-アルキル-D-システインアミドを、一般式 (4) で示されるアルデヒド又はケトンと反応させて、それぞれを一般式 (5) で示されるチアゾリジン-4-カルボン酸と一般式 (6) で示されるチアゾリジン-4-カルボン酸アミドに誘導し、該混合物より一般式 (5) で示されるチアゾリジン-4-カルボン酸を分離した後、加水分解することによって開環して、一般式 (2) で示される光学活性 2-アルキル-L-システインを得る本発明の方法が提供されたことより、DL 体の混合物である 2-アルキルシステインアミドから、医薬品等の製造中間体として重要な、高品質の光学活性 2-アルキル-L-システインを効率良く製造することが可能となった。

#### 【発明を実施するための最良の形態】

##### 【0009】

以下、本発明の詳細について説明する。本発明の原料となる 2-アルキルシステインアミドを示す一般式 (1) における R は、炭素数 1~4 の低級アルキル基であればよく、特に制限はないが、例えば、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、secブチル、及びtブチルなどの直鎖又は分枝した低級アルキル基が好適であり、メチル基が特に好適である。また、2-アルキルシステインアミドの製法等に特に制限はなく、例えば、該当する 4-アルキルチアゾリジン-4-カルボン酸アミド誘導体を加水分解する方法等によって得ることができる。なお、用いる 2-アルキルシステインアミドは、遊離物の他、塩酸塩、硫酸塩、酢酸塩等の塩として用いることも可能である。

##### 【0010】

本発明の一般式 (1) で示される 2-アルキルシステインアミドの生化学的不斉加水分解に使用される微生物は、2-アルキル-L-システインアミドのアミド結合を立体選択的に加水分解して 2-アルキル-L-システインとなす活性を有する微生物であればよく、このような微生物としては、例えば、キサントバクテラ属、プロタミノバクテラ属、及びミコプラナ属等に属する微生物、具体的にはキサントバクテラ フラバス (*Xanthobacter flavus*) NCIB 10071、プロタミノバクテラ アルボフラバス (*Protaminobacter alboflavus*) ATCC 8458、ミコバクテリウム メタノリカ (*Mycobacterium methanolicum*) BT-84 (FERM P8823)、ミコプラナ ラモサ (*Mycoplasma ramosae*) NCIB 9440、ミコプラナ ディモルファ (*Mycoplasma dimorpha*) ATCC 4279 が好ましい例として挙げられるが、これらに限定されるものではない。また、これら微生物から人工的変異手段によって誘導される変異株、或いは細胞融合若しくは遺伝子組換え法等の遺伝学的手法により誘導される組換え株等の何れの株であっても上記能力を有するものであれば、本発明に使用できる。

##### 【0011】

これらの微生物の培養は、通常資化し得る炭素源、窒素源、各微生物に必須の無機塩、栄養素等を含有させた培地を用いて行われる。培地の pH は 4~10 が、培養温度は 20~50℃ が取り得る一般的範囲であるが、使用する微生物の成育特性に合わせて培養条件を適宜決めればよい。培養は 1 日~1 週間程度好気的に行われる。このようにして培養した微生物は、生菌体又は該生菌体処理物、例えば培養液、分離菌体、菌体破砕物、さらには精製した酵素として反応に使用される。また、常法に従って菌体又は酵素を固定化して使用することもできる。

##### 【0012】

2-アルキルシステインアミドの生化学的不斉加水分解反応の条件は以下の通りである。基質である2-アルキルシステインアミドの濃度は、0.1~40wt%の範囲が好ましく、0.5~20wt%の範囲がより好ましい。基質濃度が0.1wt%を下回る場合は反応液の容量が単に増えるだけで、生産性の面から不利となる。一方、基質濃度が40wt%を超える場合は、基質阻害が生じ、菌体又は菌体処理物当たりの生産性の面から不利となる。また、反応産物である2-アルキル-L-システインが反応途中で析出するようになるため、反応後に行う菌体又は菌体処理物を遠心分離や濾過分離する際のロスの原因ともなり不利となる。

#### 【0013】

基質である2-アルキルシステインアミドに対する微生物の菌体又は菌体処理物の使用量は、原料として用いる微生物菌体の重量が乾燥菌体に直して重量比で0.0001~3の範囲になるように添加することが好ましく、0.001~1の範囲になるようにすることがより好ましい。重量比が0.0001を下回る場合には反応速度が遅いため処理に長時間を要することになり、3を超える場合には反応時間は短くなるものの、微生物菌体の利用の面から効率的とは言えず、しかも反応後の菌体又は菌体処理物の分離に労力を要することとなり工業的に不利となる。なお、原料の2-アルキルシステインアミドの反応液中における濃度が高い場合には、前記の菌体又は菌体処理物の使用量比が、好ましい範囲の上限である3以下であって、反応が好適に実施できる比率を適宜選択すればよい。

#### 【0014】

反応温度は10~70℃の範囲が好ましく、20~40℃の範囲がより好ましい。反応温度が10℃を下回る場合は反応速度が遅いため処理時間が長くなり不利となる。一方、反応温度が70℃を超える場合は、菌体又は菌体処理物の酵素触媒活性が失活により低下するとともに、2-アルキル-D-システインアミドの非酵素的分解も伴うようになり、反応収率及び選択性の面で不利となる。

#### 【0015】

反応溶液はpH4~13の水溶液が好ましく、pH5~10の範囲がより好ましい。よりさらには、pH7~9の中性から比較的穏和な塩基性条件が特に好ましい。pH4を下回る場合は、菌体又は菌体処理物の触媒活性が低下し、pH13を上回る場合も同様に触媒活性が低下する。そのうえさらに、反応液中に含まれる2-アルキル-D-システインアミド、2-アルキル-L-システインアミド、生成物である2-アルキル-L-システイン同士が、ジスルフィド結合を形成し二量化するため好ましくない。また、2-アルキル-D-システインアミドの非酵素的な加水分解反応も起こり易くなりこれも好ましくない。反応液のpHを調整するに当たっては、水酸化ナトリウムや水酸化カリウム等の無機塩基類、及びアンモニア等を用いればよい。また、その他の物質を溶解してなる緩衝液を用いてもよい。

#### 【0016】

反応を行う際、さらにMg、Cu、Zn、Fe、Mn、Ni、Co等の金属イオンを酵素触媒の活性化剤として添加してもよい。添加する量は使用する培養菌体の菌株の種類、添加する金属イオンの種類によって異なり一概には言えないが、好ましくは1~50ppm、より好ましくは5~20ppmとなる濃度の金属イオンを添加することにより、不斉加水分解速度を向上させることができる。例えば、2価のMnイオンを5~20ppm加えた場合、反応速度は、無添加の場合に比較して2~5倍と大幅に向上する。なお、生化学的不斉加水分解反応に使用した菌体又は菌体処理物は、酵素反応に使用した後も、遠心分離若しくは濾過操作などにより回収し、不斉加水分解反応用の酵素触媒として再利用することができる。

#### 【0017】

原料の2-アルキルシステインアミド、反応後の2-アルキル-L-システインや2-アルキル-D-システインアミドは構造内にメルカプト基を有することから酸化を受けやすく、酸素存在下で放置すると2量化したジスルフィド(2, 2'-ジアルキルシステイン)となる。これを防止するため、反応は窒素等の不活性ガス雰囲気下で行なうのが好まし

いが、系内に 2-メルカプトエタノール等の還元性物質を共存させる方法も可能である。また、反応に用いる全ての溶媒を、反応実施前に脱気すると、副生成物を生成せず好適に反応を進行させることができるようになる。

#### 【0018】

反応終了液から、例えば遠心分離又は濾過膜などの通常の固液分離手段により微生物菌体を除く。さらに限外濾過や活性炭等の吸着剤を用いて残された微生物由来の有機物を除去するとより好適である。次いで、この反応液を濃縮して水を留去し、濃縮物を次のチアゾリジン環化反応の原料に供する。

#### 【0019】

2-アルキルシステインアミドの生化学的不斉加水分解反応で生成した光学活性 2-アルキル-L-システインと未反応の 2-アルキル-D-システインアミドは、一般式 (4) で示されるアルデヒド又はケトン、或いはそれらのアセタール (ケタール) と反応させて、それぞれ一般式 (5) で示されるチアゾリジン-4-カルボン酸及び一般式 (6) で示されるチアゾリジン-4-カルボン酸アミドに誘導される。ここで使用するアルデヒド又はケトンを表す一般式 (4) の  $R_1$  及び  $R_2$  は各々独立した水素 (但し、両者が同時に水素の場合を除く)、炭素数 1~4 の低級アルキル基、又は両者が互いに結合した員数 5~8 の脂環構造であればよく特に制限はない。炭素数 1~4 の低級アルキル基としては例えば、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、secブチル及びtブチルなどの直鎖又は分枝した低級アルキル基が好適であり、そのうち  $R_1$  及び  $R_2$  が共にメチル基の場合が特に好適である。このような化合物として、具体的にはアセトン、メチルエチルケトン、シクロヘキサノン等が挙げられ、特にアセトンが好適に使用される。

#### 【0020】

用いる有機溶媒としては、それ自体が反応の基質でもある一般式 (4) で示されるアルデヒド又はケトン、或いはそれらのアセタール (ケタール) が反応系の分子種を増やさずにすむ点で好ましい。添加量はチアゾリジン環化する 2-アルキル-L-システインと 2-アルキル-D-システインアミドの合計量に対して同等モル以上あればよく、特に上限はないが、経済性の観点から均一溶液となる濃度を上限として用いるのが好ましい。また、それだけでは反応基質や生成物の溶解度が不足し反応系が均一化できない場合には、少ない添加量で均一性が保たれ反応に対する妨害作用を有さない溶媒を適宜選択して用いられればよい。そのような溶媒としては、例えば、メタノール、エタノール等のアルコール類が好適に用いられる。

#### 【0021】

また、反応に伴う生成水を除去しながら行なうと、より好適に反応を進行させることができる。脱水法としては特に限定されず、ディーンシュターク分液装置やモレキュラーシープの様な脱水剤を用いても良く、脱水剤を用いる場合には生成水量の 1 倍モル以上、好ましくは 1.2 倍モル以上の脱水能力を持つように用いるのが望ましい。反応温度は特に限定されないが、より高い温度で実施した方が反応が速く進行することから、通常は還流温度条件で行なうのが好ましい。また、この環化反応は無触媒でも進行するが、少量の塩基を添加したほうが速やかに進行する。用いる塩基としては特に限定はされないが、水酸化ナトリウム、炭酸ナトリウム、テトラメチルアンモニウムヒドロキシド、アンモニア、トリメチルアミン等の塩基性物質が使用可能である。その量が過剰であった場合、後処理の中和に必要な酸の量が増えるため好ましくなく、適当な量は原料の 2-アルキルシステインアミドの 5 倍当量以下、好ましくは 1~3 倍当量である。

#### 【0022】

反応終了後の反応液から溶媒と揮発分を除去した後、得られた濃縮物からアルコール類などの適当な有機溶媒を用いて可溶物のチアゾリジン-4-カルボン酸アミドを抽出し、不溶分として残ったチアゾリジン-4-カルボン酸を濾別する。濾別したチアゾリジン-4-カルボン酸は適当な有機溶媒で再結晶することにより不純物となるタンパク質、核酸及びチアゾリジン-4-カルボン酸アミド等を取り除くことができる。この際に用いられる有機溶媒としては、熱濾過処理を施すことにより、無機塩類が濾別除去され、結晶熟成



時には生化学的不斉加水分解時に混入してくるタンパク質や核酸等の溶解度が高く、且つ目的とする一般式(5)に示すチアゾリジンカルボン酸が溶解しにくい溶媒を適宜選択すればよい。例えばエタノールやブタノール等のアルコール類、テトラヒドロフランやジオキサン等のエーテル類が好適に用いられる。

#### 【0023】

濾取したチアゾリジン-4-カルボン酸を水溶液となし加熱還流すると、加水分解的に開環反応が進行する。この際、生成する一般式(4)で示されるアルデヒド又はケトン、例えば還流冷却管の上部から系外に除去するような方法を講じながら行なうと、反応が速やかに進行する。また、加水分解触媒として塩酸や硫酸等の酸を用いると、より速やかに反応が進行するが、この場合には酸との塩としてアミノ酸が得られることになる。反応時間は、反応液の組成や操作条件によって異なるので一概に言えないが、通常、チアゾリジン-4-カルボン酸の水溶液を、生成するアルデヒド又はケトン系外に除去しながら加熱還流すると、1~6時間程度で反応を完結することができる。

#### 【0024】

前記の加水分解の開環反応後の反応液を、例えば減圧濃縮等の方法で処理することにより2-アルキル-L-システインを得ることができる。なお、アルデヒド又はケトンが残留し留去が困難な場合には、エーテルや塩化メチレン等の非極性有機溶媒を加えて上層に転溶し除去した後、水層を分取して濃縮すればよい。

#### 【0025】

本発明の方法によって、具体的には、例えば2-メチル-L-システイン、2-エチル-L-システイン等の光学活性2-アルキル-L-システインを製造することができる。

#### 【実施例】

#### 【0026】

本発明を実施例により更に具体的に説明するが、本発明はこれによって限定されるものではない。

#### 実施例1

#### 【0027】

次の組成を有する培地を調製し、この培地200mLを1L三角フラスコに入れ、滅菌後、キサントバクターフラバス(*Xanthobacter flavus*) NCIB 10071を接種し、30℃で48時間振とう培養を行った。次いで培養液から、遠心分離により、乾燥菌体1.0gに相当する生菌体を得た。

培地組成(pH7.0)

グルコース	10g
ポリペプトン	5g
酵母エキス	5g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1g
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.4g
FeSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.01g
MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O	0.01g
水	1L

ラセミの2-メチルシステインアミド塩酸塩10.0g(0.06mol)を水300mLに溶かした後、500mLフラスコに入れ、2価のMnイオンの濃度が10ppmとなるように塩化マンガン水溶液を加え、さらに、乾燥菌体1.0gに相当する生菌体を加えて、窒素気流下、40℃で24時間攪拌して加水分解反応を行った。反応後、反応液から遠心分離によって菌体を除去して上清を得た。この上清をロータリーエバポレーターで濃縮した後、メタノール150mLに溶解させた。続いてアセトン200mL、炭酸ナトリウム3.6g(0.03mol)を加えて16時間、攪拌下室温で反応させた。反応液を濃縮後、50mLのイソブチルアルコールを加えて4時間還流条件で可溶物を抽出し、放冷後、不溶物として残った結晶を濾別した。得られた結晶をエタノールを用いて再結晶し、無色透明の2, 2, 4-トリメチルチアゾリジン-4-カルボン酸の結晶を得た。得られ

た 2, 2, 4-トリメチルチアゾリジン-4-カルボン酸を 100 mL の純水に溶解させ、窒素気流下にて 3 時間還流を行った。反応液をロータリーエバポレーターで濃縮した後、減圧乾燥を行い、3.1 g (0.02 mol) の 2-メチル-L-システインを得た。反応に仕込んだラセミ混合物中の 2-メチル-L-システインアミドからの単離収率は 78 mol %、ラセミ混合物の 2-メチルシステインアミドからの単離収率は 39 mol % であった。また、この固体を光学異性体分離カラムを用いた液体クロマトグラフィーによって分析した結果、光学純度は 95 % e. e. 以上であった。

#### 実施例 2

##### **【0028】**

実施例 1 において、塩化マンガン水溶液を加えずに生化学的不斉加水分解反応を行ったところ、40℃ 48 時間反応させることにより実施例 1 と同様の 3.1 g (0.02 mol) の 2-メチル-L-システインが得られた。2-メチル-L-システインアミドからの単離収率は 78 mol %、2-メチルシステインアミドからの単離収率は 39 mol %、光学純度は 95 % e. e. 以上であった。

## 【書類名】 要約書

## 【要約】

## 【課題】

各種工業薬品、農薬及び医薬品の製造原料として広範な活用が期待され、産業上、非常に有用な化合物である光学活性 2-アルキル-L-システインの効率的な製造方法を提供する。

## 【解決手段】

D,L混合物である 2-アルキルシステインアミドに、2-アルキル-L-システインアミドのアミド結合を立体選択的に加水分解する活性を有する微生物の菌体又は菌体処理物を作用させ、生成した 2-アルキル-L-システインと未反応の 2-アルキル-D-システインアミドを、アルデヒド又はケトン、或いはケタール（アセタール）と反応させてチアゾリジン環化させた後、チアゾリジン-4-カルボン酸を分離し、これを開環、加水分解することによって、高品質かつ安価に光学活性 2-アルキル-L-システインを製造することができる。

認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2 0 0 4 - 1 8 4 5 9 5
受付番号	5 0 4 0 1 0 5 3 2 1 7
書類名	特許願
担当官	第五担当上席 0 0 9 4
作成日	平成 1 6 年 6 月 2 4 日

< 認定情報・付加情報 >

【提出日】 平成16年 6月23日

特願 2 0 0 4 - 1 8 4 5 9 5

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [ 0 0 0 0 0 4 4 6 6 ]

1. 変更年月日 1 9 9 4 年 7 月 2 6 日

[変更理由]

住所変更

住 所

東京都千代田区丸の内 2 丁目 5 番 2 号

氏 名

三菱瓦斯化学株式会社

# Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/JP04/017140

International filing date: 18 November 2004 (18.11.2004)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: JP  
Number: 2004-184595  
Filing date: 23 June 2004 (23.06.2004)

Date of receipt at the International Bureau: 20 January 2005 (20.01.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland  
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning Operations and is not part of the Official Record.**

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☒ **BLACK BORDERS**

☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**

☐ **FADED TEXT OR DRAWING**

☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**

☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**

☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**

☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**

☒ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**

☒ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**

☐ **OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**